Aus dem Hauptlaboratorium der Schering AG., Berlin

Direktor: Dr. G. Raspé

ÜBER DEN EINFLUSS ANABOLER C_{19} - STEROIDE AUF DEN CORTICOSTERON-STOFFWECHSEL DER RATTE IN VIVO

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

David Amamoo

aus Accra, Ghana

1968

Aus dem Hauptlaboratorium der Schering AG, Berlin

Direktor: Dr. G.Raspé

ÜBER DEN EINFLUSS ANABOLER C_{19} - STERCIDE AUF DEN CORTICOSTERON-STOFFWECHSEL DER RATTE IN VIVO

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

David A m a m o o

aus Accra, Ghana

Dekan: Prof. Dr. med. H. W. S p i e r

Referent: Prof. Dr. med. M. K r a m e r

Korreferent: Prof. Dr. med. H. H e r k e n

UNIV. LEIDEN BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 30.9.1968

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	METHODIK	9
	1., 2. Versuchsanordnung	
	3. Corticosteron-Bestimmung im Plasma der Ratte	
	4. Bestimmung der Halbwertszeit des Corticosterons im Plasma der Ratte	
III.	ERGEBNISSE	11
IV.	DISKUSSION	16
V.	ZUSAMMENFASSUNG	19
VI.	LITERATUR	20

I. EINLEITUNG

Als anabole Steroide bezeichnet man Verbindungen, bei denen durch Änderung der Molekülstruktur die androgene Aktivität reduziert, die Protein-anabole Eigenschaft aber ausgeprägt ist. Bei diesen Verbindungen ist das Verhältnis der anabolen zur androgenen Wirkung gegenüber dem Testosteron zugunsten der anabolen Wirkung verschoben. Eine völlige Dissoziation der beiden Wirkungsqualitäten ist bisher nicht gelungen.

Anabolika führen bei ausreichender Eiweißzufuhr zu erhöhtem Eiweißaufbau, was sich u.a. an der positiven Stickstoffbilanz nachweisen läßt; es kommt gleichzeitig zu einer Retention von Calcium, Phosphor und Kalium. Diese Wirkung wird zur Behandlung der Osteoporose ausgenutzt[1-10].

Anabolika sind indiziert, wenn eine eiweißaufbauende Therapie angezeigt ist. Voraussetzung für den Erfolg einer solchen Therapie ist eine genügende Eiweißzufuhr.

Anabolika sind bei folgenden Zuständen klinisch verwendet worden: Untergewichtigkeit[3,11-17], Erschöpfungszuständen, Appetitlosigkeit, bei der Rekonvaleszenz nach akuten Infekten, bei Zuständen nach Traumen[18] und Verbrennungen[19-24], nach Operationen[25-31], bei Infektionskrankheiten[32,33], Anämie, Lungenemphysem, Lungen-Tbc[34], Ulcus ventriculi und Ulcus duodeni, Postgastroektomie-Syndrom[35,36], konsumierenden, mit Kachexie einhergehenden Leiden, vor allem bösartigen Tumoren[3.37,38], wobei das Prostatacarcinom ausgenommen ist[39], sowie bei Cytostatika- und Röntgenbehandlung[40-43].

Eine Corticoid-Langzeitbehandlung kann zu erheblichen Eiweißverlusten des Organismus führen. Durch die gleichzeitige Gabe von Corticoiden und Anabolika kann der Eiweißverlust reduziert werden, ohne die antiphlogistische Wirkung der Corticoide zu beeinträchtigen.

Wie schon erwähnt, werden die meisten Formen der Osteoporose[3,11,14,46,47] günstig beeinflußt. Es kommt zu einer Verlangsamung des Knochenabbaues und zu einem vermehrten Matrix-Aufbau.
Die Frakturhäufigkeit soll unter Anabolika herabgesetzt werden[45] und schon bestehende Frakturen sollen schneller heilen.
Sowohl die Hypercalcämie als auch die Hypercalcurie soll reduziert werden können[3,44].
Klinische Erfolge sind bei der Osteogenesis imperfecta [6,48,49], bei Morbus Paget[50-54], Chondrodystrophie[50], Osteochondritis juvenilis[50] und Morbus Sudeck[52] erzielt worden.
Die Anabolika werden auch zur Behandlung degenerativer Muskelleiden wie z.B. bei der progressiven Dystrophie [53-57] eingesetzt. Obwohl hier die Ätiologie des Leidens noch nicht geklärt ist, kann es unter Anabolika zu einer Besserung des Zustandes kommen.
Die nephrotropen und die nephroprotektiven Eigenschaften der Anabolika werden bei Nephrosen und Niereninsuffizienz [58-61] genutzt.
Anabolika führen über den vermehrten Aufbau bzw. verminderten Abbau von Eiweiß zu einer erhöhten Stickstoff-Retention und dadurch zu geringeren Mengen harnpflichtiger Stoffe.
Der verlangsamte Stickstoffanstieg im Plasma bei akuter Harnverhaltung unter Anabolika bestätigt den entlastenden Effekt der Anabolika bei Niereninsuffizienz. Bei Nephrosen wird vermehrt Eiweiß ausgeschieden. Anabolika führen zu einer Eiweiß-Retention, dadurch kann der Zustand gebessert werden.

Auch bei schweren Formen des Diabetes mellitus mit Gefäßkomplikationen und Augenhintergrundveränderungen ist schon seit 1951 bekannt, daß Anabolika zu einer Senkung des Blutzuckerspiegels[62] und des Plasma-Cholesteringehaltes[63] sowie zu einer günstigen Beeinflussung

der pathologischen Veränderungen am Augenhintergrund führen können[64].

Die Therapie der Hyperthyreose mit Anabolika richtet sich gegen Stoffwechselsymptome der Erkrankung. Sie ist eine antithyreotoxische Adjuvansbehandlung[3,65-68]. Es kommt zur Normalisierung der negativen Stickstoffbilanz, der Hypercalcämie und der negativen Calciumbilanz. Die Osteoclasten-Osteoporose bei hohen Dosen von Schilddrüsenhormonen soll durch Anabolika günstig beeinflußt werden.

Trotz der Fülle von Anwendungsmöglichkeiten muß betont werden, daß diese Vorteile der Therapie mit Anabolika mit gewissen Nachteilen im Sinne von Nebenerscheinungen einhergehen, auch wenn diese relativ selten sind. Als oral wirksame Anabolika wurden 17α-alkylierte C_{19}-Steroide entwickelt. Kurz nach ihrer Einführung wurde schon festgestellt, daß sich bei einem geringen Prozentsatz der behandelten Fälle eine intrahepatische Cholostase entwickelte[69].
Auch bei gesunden Versuchspersonen treten nach Verabreichung von 17-alkylierten anabolen Steroiden Symptome auf, die einer unterschwellig verlaufenden Cholostase entsprechen. Die Störung beruht auf einer Funktionsstörung der Leber. Die Leberbefunde entsprechen den Befunden beim Verschlußikterus mit beträchtlicher Steigerung des Serumbilirubins bis 37 mg%. Histologische Untersuchungen ergaben neben einer Cholostase Zeichen zentraler Lebernekrose[70]. Auch wenn die Ursache nicht endgültig geklärt ist, so scheinen die 17α-alkylierten Steroide doch eine Störung der Ausscheidungsfunktion der Leber zu verursachen.
Nach Absetzen der Medikation mit 17-alkylierten anabolen Steroiden klingt der Ikterus ab. Bis jetzt wurden drei Fälle von Steroidikterus mit letalem Ausgang mitgeteilt [71,72].
Steroid-Anabolika sind kontraindiziert bei Gravidität [73-78] und Prostata-Carcinom[79-80].

Protahierte Anabolika-Behandlung bei Kindern führt zum Wachstum der Pubis, der Gesichtsbehaarung und Veränderung der Stimme. Wenn die Anabolika-Behandlung nicht beendet wird, kann irreversibler Stimmbruch eintreten.
Bei Mädchen führt eine langdauernde Behandlung mit Anabolika zu einer Vergrößerung der Clitoris.
Manche Frauen reagieren mit Akne, Hirsutismus, Ausbreitung der Schambehaarung, Clitorishypertrophie und Libidosteigerung[81].

Die Verabreichung von 17-alkylierten Testosteronderivaten führt zu einer Abnahme der Ketosteroidausscheidung im Harn des Menschen. Dies wurde z.B. für folgende Steroide beschrieben: 17α-Methyl-17β-hydroxy-androst-1,4-dien-3-on [82-86], 17α-Äthyl-17β-hydroxy-19-nor-androst-4-en-3-on [86-88], 17α-Methyl-17β-hydroxy-19-nor-androst-4-en-3-on [89,86], 17α-Äthyl-17β-hydroxy-19-nor-androst-4-en-3-enol-propionat[90,91] und 17α-Methyl-17β-hydroxy-androst-4-en-3-on[92].

Brooks und Prunty[87] fanden nach Verabreichung von 17α-Äthyl-17β-hydroxy-19-nor-androst-4-en-3-on eine signifikante Verminderung der 11-oxygenierten 17-Ketone. Brendler und Winkler[93] fanden unter der gleichen Verbindung die Ausscheidung von Dehydroepiandrosteron stark herabgesetzt. Beide Befunde sprechen für eine Hemmung der Corticoidproduktion bzw. der Corticoidfreisetzung in der Nebenniere. Neben der 17-KS-Ausscheidung war auch die Corticoidausscheidung im Harn z.B. nach 17α-Äthyl-17β-hydroxy-19-nor-androst-4-en-3-on[87,94,86], 17α-Methyl-17β-hydroxy-19-nor-androst-4-en-3-on[95,96] und 17α-Methyl-17β-hydroxy-androst-1,4-dien-3-on[84] herabgesetzt.

Nach Wynn, Landon und James[84] ist die Verminderung der 17-KS- und 17-OHCS-Ausscheidung unter dem Einfluß von 17α-Methyl-17β-hydroxy-androst-1,4-dien-3-on bei Patienten mit erhöhter Basalausscheidung stärker ausgeprägt als bei Patienten mit niedrigen 17-KS- und 17-OHCS-Werten.

Die Aufklärung des Mechanismus, der nach Verabreichung 17-alkylierter Testosteronderivate zu einer Senkung der 17-KS- und 17-OHCS-Ausscheidung im Harn führt, war das Ziel zahlreicher Human- und Tierversuche.
Es liegt nahe, die Ursache in einer Herabsetzung der Corticoidproduktion der Nebenniere zu sehen. Diese ließe sich über eine Hemmung der ACTH-Synthese, der ACTH-Sekretion oder der ACTH-Wirkung an der Nebenniere, außerdem über eine direkte Hemmung der Corticoidsynthese in der Nebenniere oder indirekt über eine Hemmung des Corticoidabbaues verstehen.

Yates und Mitarb.[96,97] beschrieben bereits 1958 und 1959 eine verminderte Ring A-Reduktion bei Δ^4-3-Ketosteroiden durch Leberhomogenat weiblicher Ratten nach Behandlung mit Testosteron.

Cutuly und McCullagh[98] zeigten schon 1938, daß Testosteronpropionat bei hypophysektomierten Ratten zu einer Gewichtsabnahme der Nebennieren führt. Nach Leathem und Brend (1943), Leonard (1949) und Zizine (1950)[99-101] bewirken Androgene eine geringere Nebennierenatrophie bei hypophysektomierten Ratten.

Kitay untersuchte den Einfluß von Testosteron auf den ACTH-Gehalt der Hypophyse sowie auf die Corticoidsekretion der Nebennieren männlicher und weiblicher Ratten. Bei weiblichen Ratten führte Testosteron (1 x 5 mg / 100g K.G. Testosteronphenylacetat s.c., Bestimmung nach 14 Tagen) zu einer Abnahme des Gewichtes sowie des RNA- und DNA-Gehaltes der Nebennieren. Die Synthese des ACTH war stärker gehemmt als die Sekretion, sodaß der ACTH-Gehalt der Hypophyse erniedrigt wurde.
Bei männlichen Ratten wurde bei geringerer Gewichtsabnahme der Nebennieren der RNA- und DNA-Gehalt wie bei weiblichen Tieren gesenkt. Der ACTH-Gehalt der Hypophyse war aber nicht verändert. Die Plasmacorticosteron-Konzentration war bei den behandelten weiblichen Ratten sowohl nach Stress als auch nach ACTH-Injektion gegenüber den Kontrollen erniedrigt.

Die biologische Halbwertszeit von injiziertem Corticosteron war bei behandelten weiblichen Ratten verlängert (18.5 Min. gegenüber 13.5 Min. bei den Kontrollen), bei männlichen Ratten unverändert.

Die Ring A-Reduktion des Corticosterons war mit Leberschnitten behandelter weiblicher Ratten signifikant herabgesetzt, bei männlichen Tieren unverändert. Die in vitro gemessene Sekretionskapazität der Nebennieren behandelter weiblicher Ratten wurde vermindert, bei männlichen Ratten dagegen erhöht. Sowohl eine herabgesetzte Sekretionskapazität als auch ein geringerer Corticoidgehalt der Nebennieren von Testosteron-behandelten weiblichen Mäusen wurde von Sakiz[103] beschrieben.

Aus Versuchen von Kitay[104] mit gonadektomierten weiblichen und männlichen Ratten folgt, daß Testosteron die Hypophyse (ACTH) und den peripheren Corticoidumsatz hemmt, die Nebennieren aber im Sinne einer Aktivierung direkt beeinflußt. Östrogene wirken dagegen sowohl auf die Hypophyse als auch auf die Nebennierenrinde im Sinne einer Funktionssteigerung. Demnach dürften die Sexualhormone mehrere Angriffspunkte an der Hypophysen-Nebennieren-Achse besitzen. Eine Beeinflussung der Hypophyse (ACTH) ist auch bei adrenalektomierten Ratten nachweisbar, d.h. sie ist nicht notwendig an den Rückkopplungsmechanismus zwischen Nebennierenrinde und Hypophyse gebunden.

Wynn und Mitarb.[84] sowie James und Mitarb.[105] untersuchten den Einfluß des 17α-Methyl-17β-hydroxy-androst-1,4-dien-3-on auf das Hypophysen-Nebennierenrindensystem bei männlichen und weiblichen Versuchspersonen. Neben einer starken Verminderung der 17-KS- und 17-OHCS-Ausscheidung im Harn beschrieben sie eine Verlängerung der biologischen Halbwertszeit von exogenem und endogenem Hydrocortison sowie eine verminderte Hydrocortison-Bildungsrate. Unter 17α-Methyl-17β-hydroxy-androst-1,4-dien-3-on war die erhöhte Steroidausscheidung im Harn

nach Metopiron-Verabreichung teilweise oder völlig aufgehoben, wogegen die ACTH-Wirkung nicht beeinflußt wurde. Diese Befunde sprechen für eine Hemmung der Synthese oder Freisetzung von ACTH unter 17α-Methyl-17β-hydroxy-androst-1,4-dien-3-on. Bei zwei Patienten mit Cushing-Syndrom kam es zu einer Senkung des Plasmacorticoidspiegels, bei endokrinologisch Gesunden dagegen nicht.

Gemzell und Mitarb.[106] untersuchten den Einfluß von Androgenen auf den Plasmacorticoidspiegel von Patienten (50 oder 100 mg/die Testosteronpropionat, Testosteronphenylpropionat oder Methylandrostendiol). Bei mehrtägiger Verabreichung vor einer großen Operation verhinderten diese Steroide den operationsbedingten Corticoidanstieg im Plasma. Bei zwei adrenalektomierten Patienten, die auf 50 bzw. 100 mg Cortison/die eingestellt waren, führten Testosteronpropionat (3 Tage 50mg/die) und Methylandrostendiol (4 Tage 100 mg/die) zu einer starken Erniedrigung der Corticoidausscheidung im Harn.

Nach Vermeulen und Mitarb.[107] führte 17α-Methyl-19-nortestosteron im Humanversuch sowohl zu einer Verminderung der Hydrocortison-Inaktivierung als auch der -Bildungsrate in vivo. Der Hydrocortisonpool wurde nicht verändert.

Nach Schriefers und Mitarb.[108] führte eine 14-tägige Behandlung weiblicher Ratten mit täglich 1 mg 17α-Methyltestosteron und 17α-Äthyl-19-nor-testosteron zu einer Abnahme der Δ^4-5α-Hydrogenaseaktivität der Leber. Testosteron, 17α-Äthinyl-19-nor-testosteron, 1-Methyl-17β-hydroxy-androst-1,4-dien-3-on waren praktisch unwirksam.
Die parallel untersuchte Corticosteronbildung durch die Nebenniere in vitro ergab, daß bei verminderter Ring A-Hydrierung auch die Corticoidproduktion herabgesetzt war.

Nach Sharma und Mitarb.[109] hemmen Androst-4-en-3,17-dion, Dehydroepiandrosteron, Dehydroepiandrosteronsulfat und Testosteron in vitro die Bildung von Corticosteron

aus 11-Desoxycorticosteron, d.h. die 11-Hydroxylierung. Progesteron und 17α-Hydroxyprogesteron waren wirkungslos.

Der hemmende Einfluß von C_{19}-Steroiden auf die Ring A-Reduktion der Corticosteroide in der Leber dürfte nach den vorstehend skizzierten Literaturbefunden gesichert sein. Damit im Einklang steht die Verlängerung der biologischen Halbwertszeit der Corticoide.
Die aufgrund der herabgesetzten Corticoid-Inaktivierung in der Leber zu erwartende Hemmung der ACTH-Synthese und -Sekretion bietet sich zur Erklärung der in vitro und in vivo gemessenen reduzierten Corticoid-Bildungsrate an.

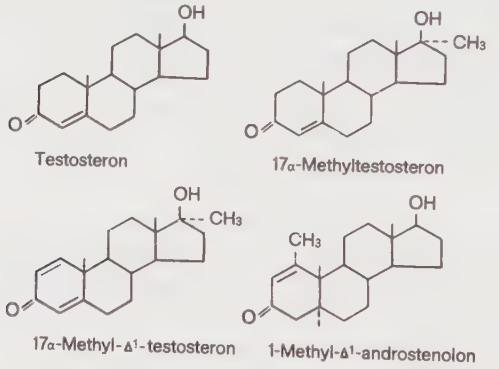
In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß einiger C_{19}-Steroide mit und ohne 17α-Methylgruppe auf den Plasmacorticosteronspiegel von Ratten untersucht, denen 16 Stdn. vor der Corticoidbestimmung Futter und Trinkwasser entzogen worden war, d.h. unter Stressbedingungen, die bei unbehandelten Kontrolltieren zu einem Anstieg des Plasmacorticosteronspiegels führten.

II. METHODIK, VERSUCHSANORDNUNG

1. Alle Versuche wurden an weiblichen Sprague-Dawley-Ratten durchgeführt. Das Körpergewicht der Tiere betrug 140 - 170 g.
   Die Ratten erhielten normales Laborfutter und Wasser ad libitum. 16 Stdn. vor der Corticosteron-Bestimmung im Plasma wurde den Tieren Futter und Trinkwasser entzogen.

   Zur Bestimmung der Corticosteron-Halbwertszeit wurden die Ratten 4 Tage vor dem Versuch in Äthernarkose adrenalektomiert. Bis zum Versuch erhielten diese Tiere Futter und 1 %ige Kochsalzlösung ad libitum.

2. Bei den Versuchen wurden folgende Steroide benutzt:



Die Steroide wurden als Suspensionen in einem Volumen von jeweils 0.1 ml unter die Nackenhaut injiziert.
Das Suspensionsmedium hatte folgende Zusammensetzung: 85 mg Myri (Polyoxyäthylenmonostearat) + 900 mg Kochsalz in 100 ml Wasser.

Die Verbindungen wurden jeweils 24 Stdn. vor der Corticosteron-Bestimmung im Plasma verabreicht.
Die Tiere wurden am nächsten Morgen zwischen 9 und 11 Uhr durch Kopfschlag und Halsschnitt getötet und entblutet.

3. Corticosteron-Bestimmung im Plasma der Ratte:
Das nach Halsschnitt erhaltene Blut wurde von jeweils zwei Tieren zur Analytik vereinigt, heparinisiert und 10 Min. bei 3000 U/Min. zentrifugiert.
Das Plasmacorticosteron wurde nach Moncloa und Mitarb. [110] in jeweils 0.6, 1.0 und 1.4 ml Plasma fluorometrisch bestimmt; Primärfilter: 470 mμ, Sekundärfilter: 525 mμ.

4. Bestimmung der Corticosteron-Halbwertszeit bei der Ratte:
Das Corticosteron wurde in 1 ml Äthanol gelöst und mit physiologischer Kochsalzlösung ad 10.0 ml gebracht. Die Lösung enthielt 50 μg Corticosteron in 0.5 ml.
Die Tiere erhielten 50 μg Corticosteron/100 g Körpergewicht in die Schwanzvene.
5, 10, 15, 20, 25 und 30 Min. nach der Injektion wurden jeweils 2 Tiere zur Corticosteron-Bestimmung im Plasma getötet und entblutet. Die Behandlung wurde am Tag nach der Adrenalektomie begonnen. Die Steroide wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen s.c. injiziert. Die Bestimmung der Halbwertszeit des Corticosteron erfolgte ca 24 Stdn. nach der letzten Injektion.

III. E R G E B N I S S E

Nach Abb 1 beträgt die Corticosteron-Konzentration im Plasma der Kontrolltiere 16 Stdn. nach Entzug von Nahrung und Trinkwasser im Mittel 41.2 µg%. Testosteron führt erst bei einmaliger Injektion von 10 mg/100 g K.G. zu einer signifikanten Senkung der Corticosteron-Konzentration im Plasma.

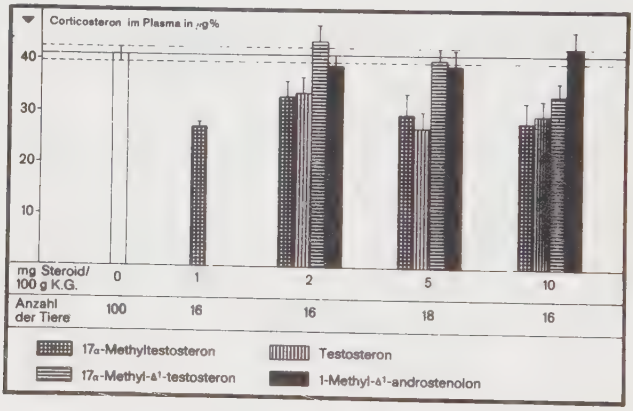


Abb. 1: Corticosteron-Konzentration im Plasma weibl. Ratten, 24 Stdn. nach s.c. Injektion verschiedener C_{19}-Steroide.
Vor der Corticosteron-Bestimmung waren die Tiere über Nacht ohne Futter und ohne Trinkwasser.

17α-Methyltestosteron senkt die Corticosteron-Konzentration im Plasma der Ratte bereits mit 1 mg/100 g K.G. maximal von 41.2 µg% auf 27.2 µg%. Eine Erhöhung der Dosis führt nicht zu einer weiteren Senkung der Corticosteron-Konzentration.

Wie 17α-Methyltestosteron senkt auch 17α-Methyl-Δ^1-testosteron mit 2 mg/100 g K.G. den Corticosterongehalt im Plasma signifikant. Auch bei diesem Steroid führt eine Dosiserhöhung zu keiner weiteren signifikanten Senkung des Corticosterongehaltes im Plasma.
Im Gegensatz zum Testosteron, 17α-Methyltestosteron und 17α-Methyl-Δ^1-testosteron führt 1-Methyl-Δ^1-androstenolon mit 2, 5 und 10 mg/100 g K.G. nicht zu einer Erniedrigung der Corticosteron-Konzentration.

Nach Abb.2 beträgt die Halbwertszeit des Corticosterons im Plasma der Ratte etwa 11 Minuten.

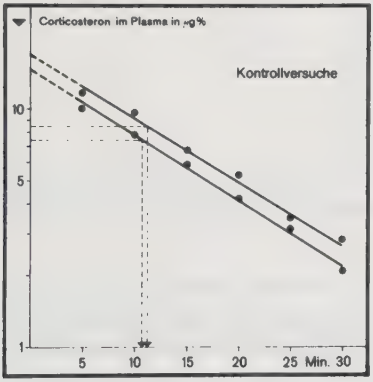


Abb. 2: Corticosteron-Konzentration im Plasma der adrenalektomierten Ratte nach i.v. Injektion von 50 µg Corticosteron/100 g K.G.

Durch eine dreitägige Verabreichung von 5 mg Testosteron (Abb.3) bzw. 5 mg 1-Methyl-Δ^1-androstenolon pro 100 g K.G. (Abb.4) wurde die Halbwertszeit des Corticosterons nicht beeinflußt.

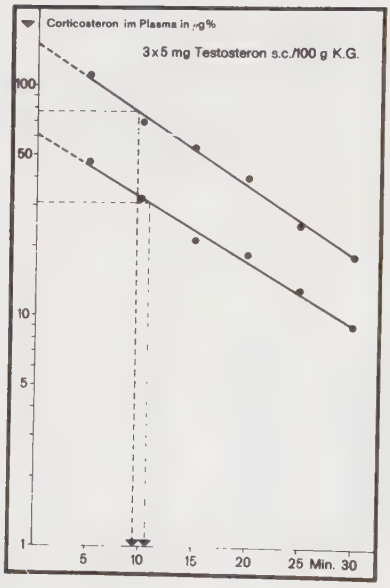


Abb. 3: Corticosteron-Konzentration im Plasma der adrenalektomierten Ratte nach i.v. Injektion von 50 µg Corticosteron/100 g K.G. Die Tiere erhielten an drei Tagen vor der Bestimmung je 5 mg Testosteron s.c. pro 100 g K.G.

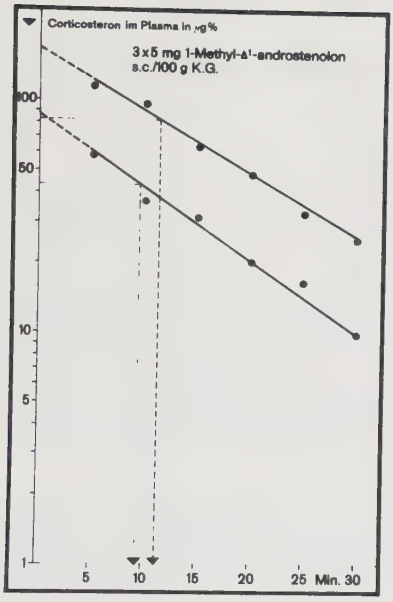


Abb. 4: Corticosteron-Konzentration im Plasma der adrenalektomierten Ratte nach i.v. Injektion von 50 µg Corticosteron/100 g K.G. Die Tiere erhielten an drei Tagen vor der Bestimmung je 5 mg 1-Methyl-Δ^1-androstenolon s.c. pro 100 g K.G.

Im Gegensatz zum Testosteron und 1-Methyl-Δ^1-androstenolon führt die Verabreichung von 17α-Methyl-Δ^1-testosteron zu einer Verlängerung der Halbwertszeit des Corticosterons von ca 11 Min. auf ca 16 Min. (Abb.5).

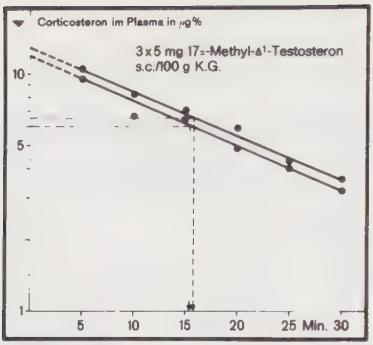


Abb. 5: Corticosteron-Konzentration im Plasma der adrenalektomierten Ratte nach i.v. Injektion von 50 µg Corticosteron/100 g K.G. Die Tiere erhielten an drei Tagen vor der Bestimmung je 5 mg 17α-Methyl-Δ^1-testosteron s.c. pro 100 g K.G.

Von den untersuchten Steroiden besitzt 17α-Methyltestosteron die stärkste Wirkung. Es verlängert die Halbwertszeit des Corticosterons von 11 auf 21 Minuten.

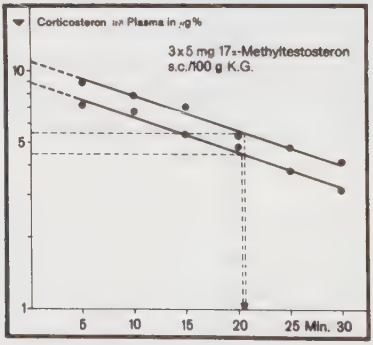


Abb. 6: Corticosteron-Konzentration im Plasma der adrenalektomierten Ratte nach i.v. Injektion von 50 µg Corticosteron/100 g K.G. Die Tiere erhielten an drei Tagen vor der Bestimmung je 5 mg 17α-Methyltestosteron s.c. pro 100 g K.G.

IV. DISKUSSION

Nach den in der Einleitung zusammengestellten Literaturbefunden wird die mikrosomale Ring A-Reduktion in der weiblichen Rattenleber durch 17-alkylierte androgene Steroide gehemmt. Die daraus resultierende Hemmung des Corticoidabbaues soll über eine Verlängerung der Corticoid-Halbwertszeit im Plasma zu einer Hemmung der ACTH-Sekretion und dadurch zu einer verminderten Corticoidproduktion und Corticoidsekretion der Nebennieren führen. Die in der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Befunde stehen mit dieser Vorstellung in Einklang.

Bei normal gefütterten und unbelasteten Ratten war es nicht möglich, bei ein- oder mehrmaliger Verabreichung einen Einfluß der untersuchten Androgene auf die Corticosteron-Konzentration im Plasma nachzuweisen, d.h. es kam trotz der zu erwartenden Abbauhemmung des Corticosterons nicht zu einem Anstieg der Corticosteron-Konzentration im Plasma. Erst bei Belastung der Tiere durch Nahrungs- und Trinkwasserentzug ließ sich in vivo eine Beeinflussung der Corticosteron-Konzentration im Plasma nachweisen.
Die 17-alkylierten Androgene 17α-Methyltestosteron und 17α-Methyl-Δ^1-testosteron führten hier bereits bei niedriger Dosierung zu einem geringeren Corticosteronanstieg im Plasma gegenüber den nur mit Suspensionsmedium behandelten Kontrollen. Unter Stress-Bedingungen war so eine verminderte Aktivität des Hypophysen-Nebennierensystems bei den mit 17-alkylierten C_{19}-Steroiden behandelten Ratten nachweisbar. Diese Ergebnisse entsprechenden von Gemzell und Mitarb.[106] an Patienten erhaltenen Befunden, nach denen Androgene bei mehrtägiger Verabreichung vor einer großen Operation den operationsbedingten Corticoidanstieg im Plasma verhinderten. Im Gegensatz dazu war ohne zusätzliche Belastung - wieder wie im Tierversuch - eine Beeinflussung des Corticoidspiegels im Plasma durch 17-alkylierte Androgene nicht nachweisbar[86].

Nach den vorliegenden Ergebnissen entspricht bereits eine durch Hemmung des Abbaues bedingte Verlängerung der Corticosteron-Halbwertszeit auch ohne meßbare Erhöhung der Corticoid-Konzentration im Plasma im Hinblick auf die hypophysenbremsende Wirkung einer exogenen Corticoidzufuhr.
Unter Stress-Bedingungen führt aber selbst eine starke Erhöhung der Corticosteron-Konzentration im Plasma offensichtlich nicht zu einer der Corticosteron-Konzentration im Plasma entsprechenden Hemmung der ACTH-Sekretion. Man kann daraus schließen, daß die Hemmung der ACTH-Sekretion aufgrund des erhöhten Corticosteronspiegels im Plasma durch die Stress-bedingte Stimulation der ACTH-Sekretion überkompensiert wird oder/und daß der Rückkopplungsmechanismus unter Stress-Bedingungen gleichsam entkoppelt wird. Dies würde einer verminderten Ansprechbarkeit des Hypothalamus gegenüber der Corticosteron-Konzentration im Plasma unter Stress-Bedingungen entsprechen.

Gemessen an der Halbwertszeit des Corticosterons hemmt - von den untersuchten Steroiden - das 17α-Methyltestosteron bei der Ratte den Corticosteronabbau in vivo am stärksten. Damit übereinstimmend wird der Stress-bedingte Corticosteronanstieg bei der Ratte bereits durch die einmalige subcutane Verabreichung von 1 mg 17α-Methyltestosteron stark vermindert (Abb.1).
Auch das 17α-Methyl-Δ^1-testosteron führt unter den angewandten Versuchsbedingungen zu einer deutlichen Verlängerung der Corticosteron-Halbwertszeit und entsprechend zu einem verminderten Stress-bedingten Corticosteronanstieg im Plasma.
Testosteron führt bei dreitägiger Verabreichung von je 5 mg/100 g K.G. nicht zu einer Verlängerung der Halbwertszeit des Corticosterons im Rattenplasma, d.h. es hemmt unter diesen Bedingungen noch nicht den Corticosteronabbau in vivo.

Die einmalige subcutane Verabreichung von 10 mg Testosteron/100 g K.G. führt aber zu einer deutlichen Verminderung des Stress-bedingten Corticosteronanstieges. Bei entsprechend hoher Dosierung ist also auch das nicht an C_{17} alkylierte Testosteron in der Lage, hemmend in das Hypophysen-Nebennierensystem einzugreifen. Dieses Ergebnis entspricht den Befunden von Kitay[104] an der Ratte und von Gemzell[106] an Patienten.
Es ist daher umso überraschender, daß das an C_{17} ebenfalls nicht alkylierte 1-Methyl-Δ^1-androstenolon im Gegensatz zum Testosteron den Stress-bedingten Anstieg der Corticosteron-Konzentration im Plasma der Ratte nicht beeinflußt.

Aus den Befunden mit Testosteron kann man schließen, daß eine Alkylgruppe an C_{17} offenbar keine notwendige Voraussetzung für die Hemmung des Hypophysen-Nebennierensystems darstellt. Der Vergleich der Strukturformeln von Testosteron und 1-Methyl-Δ^1-androstenolon legt den Schluß nahe, die fehlende Beeinflussung des Hypophysen-Nebennierensystems durch 1-Methyl-Δ^1-androstenolon auf das Fehlen der Δ^4-3-Ketogruppierung in diesem Molekül zurückzuführen. Dabei ist noch offen, ob die Hemmung des Hypophysen-Nebennierensystems durch C_{19}-Δ^4-3-Ketosteroide ausschließlich indirekt über eine Hemmung des Corticoidabbaues in der Leber erfolgt oder ob auch entsprechend den Befunden von Kitay[104] eine direkte Hemmwirkung der C_{19}-Δ^4-3-Ketosteroide auf die ACTH-Sekretion oder/und -Produktion angenommen werden muß.

V. Z U S A M M E N F A S S U N G

Es wird eine Methode beschrieben, mit deren Hilfe es möglich ist, bei der Ratte in vivo die Beeinflussung des Hypophysen-Nebennierenrinden-Systems durch C_{19}-Steroide zu messen. Der Stress-bedingte Corticosteronanstieg im Plasma wird dabei als Meßgröße für die Aktivität des Hypophysen-Nebennierenrinden-Systems benutzt.

17α-Methyltestosteron, 17α-Methyl-Δ^1-testosteron und hohe Dosen Testosteron hemmen den Stress-bedingten Corticosteronanstieg. Im Gegensatz zu diesen Steroiden zeigt das 1-Methyl-Δ^1-androstenolon keine Wirkung auf die Hypophysen-Nebennierenachse, d.h. der Stress-bedingte Corticosteronanstieg im Plasma entspricht hierbei den unbehandelten Kontrollen.

Die Halbwertszeit des Corticosterons im Plasma der Ratte wird durch die Geschwindigkeit des Corticosteronabbaues in der Leber bestimmt.
Die Halbwertszeit des Corticosterons in vivo wird durch die an C_{17} alkylierten C_{19}-Steroide 17α-Methyltestosteron und 17α-Methyl-Δ^1-testosteron verlängert. Testosteron und 1-Methyl-Δ^1-androstenolon beeinflussen unter den angewandten Versuchsbedingungen die Halbwertszeit des Corticosterons nicht.

Die vorliegenden Befunde sprechen dafür, daß die Hemmung des Corticosteronabbaues in der Leber durch C_{19}-Steroide über die daraus resultierende Verlängerung der Corticosteron-Halbwertszeit im Plasma zu einer Hemmung der ACTH-Sekretion und dadurch zu einer verminderten Corticosteron-Sekretion der Nebenniere führt.

L I T E R A T U R

1. Banghart, H.E.: Amer. Practit. 5, 964 (1954)

2. Werner, M., Hitz, A., Thölen, H. und Baumann, H.R.: Klin.Wschr. 39, 998 (1961)

3. Schwarting, G. und Neth, R.: Schweiz.med.Wschr. 90, 1092 (1960)

4. Jesserer, H.: Ciba Symp. 8, 217 (1960)

5. Tillis, H.: Clin.Med.(USA) 8, 274 (1961)

6. Albright, F. und Reifenstein, E.C., jr.: The Parathyroid Glands and Metabolic Bone Disease; Baltimore 1948

7. Isemein, L., Tabau, R., Fournier, A.M. und Vignoli, R.: Rev.Reumat. 27, 547 (1960)

8. Velimirovic, B.: Med.Welt, S. 1042 (1962)

9. Pearson, O.H.: 'Hormones and the Aging Process', (ed. E.T.Engle und G.Pincus), New York 1956

10. Montuschi, E.: Brit.med.J. S. 647 (1959) I

11. Sala, G., Cesana, A. und Fedriga, G.: Minerva med. (Torino) 51, 1295 (1960)

12. Beiglböck, W. und Brummund, W.: Med.Welt, S.1192 (1960)

13. Watson, R.N., Bradley, M.H., Callahan, R., Peters, B.J. und Kory, R.C.: Amer.J.Med. 26, 238 (1959)

14. Alfié, I.: Dia.méd. (Arg.) 32, 796 (1960)

15. Lambillon, J.: Brux.méd. 37, 1476 (1957)

16. Romani, J.D. und Keller, A.: Ann.Endocrin.(Paris) 22, 65 (1961)

17. Dogliotti, G.C. und Molinatti, G.M.: Arch.Stud.Fisiopat. 22, 348 (1958)

18. Moore, F.D. und Ball, M.R.: 'Metabolic Response to Surgery', Springfield, Ill. 1952

19. Hirshfield, J.W., Williams, H.D., Abbot, W.E., Heller, C.G. und Pilling, M.A.: Surgery 15, 766(1944)

20. Keyser, J.W.: Ann.Surg. 127, 605 (1948)

21. Reiss, E., Pearson, E., Artz, C.P. und Balikov, B.:
J.clin.Invest. 35, 62 (1956)

22. Nylén, B. und Wallenius, G.:
Acta chir.scand. 122, 97 (1961)

23. Ghione, M.: Sperimentale 107, 182 (1957)

24. Lindlar, F. und Berger, H.: Schweiz.med.Wschr.
92, 110 (1962)

25. Bradshaw, J.S., Abbott, W.E. und Levey, S.:
Amer.J.Surgery 99, 600 (1960)

26. Buchner, H.: Wien.med.Wschr., S. 576 (1961)

27. Peden, J.C., Maxwell, M.C. und Ohin, A.:
Arch.Surg. 75, 625 (1957)

28. Gilder, H., Free, E.A., Weeks, D.L. und Beal, J.M.:
Surg.Forum 7, 97 (1956)

29. Gallone, L.: Arch.Stud.Fisiopat. 22, 344 (1958)

30. Calabi, V.: Minerva med. (Torino) 52, 361 (1961)

31. Hayes, M.A., Hodgson, P.E. und Coller, F.A.:
Ann.Surg. 136, 643 (1952)

32. Hoff, F.: Klinische Physiologie und Pathologie,
6. Aufl., Stuttgart 1961

33. Krawutschke, R. und Radenbach, K.L.:
Med.Klin. 57, 512 (1962)

34. Harris, L.H.: J.clin.Endocrin. 21, 1099 (1961)

35. Wayjen, R.G.A.van, Groen, J. und Willebrands, A.F.:
Ned.T.Geneesk. 102, 243 (1958)

36. Wayjen, R.G.A.van, Groen, J. und Willebrands, A.F.:
Gastroenterology 36, 599 (1959)

37. Myerson, R.M.: Amer.J.med.Sci. 241, 732 (1961)

38. Demol, R., Thiery, M., François-Termont, E., Bekaert,
J., Peeters, H. und Vuylsteek, P.:
Praxis (Bern) 49, 477 (1960)

39. Verhagen, A.: Münch.med.Wschr. 101, 1829 (1959)

40. Reiffenstuhl, G.: Med. Klin. 56, 847 (1961)

41. Witschi, H.P., Barandun, S. und Cottier, H.:
Schweiz.med.Wschr. 92, 104 (1962)

42. Hagenbuchner, K.: Wien.klin.Wschr. S.214 (1962)

43. Heinen, G.: Geburtsh. und Frauenheilk. 20, 1365 (1960)

44. Geyer, G. und Jesserer, H.: 'Die endokrine Behandlung
des Mamma- und Prostatacarcinoms'
(ed. H.Nowakowsky), Springer-Verlag 1961

45. Hernberg, C A.: Acta med.scand. 141, 309 (1952)

46. Harris, J., Blechman, W. und Young, N. und Malm, O.:
Arthritis and Rheumat. 3, 341 (1960)

47. Bröchner-Mortensen, K., Gjörup, S. und Thaysen, J.H.:
Acta med.scand. 165, 197 (1959)

48. Koumans, A.K.J.: Lancet S.1392 (1958) I

49. Anderson, I.H.: Acta endocrin.(Kbh.) 39, Suppl. 63,
S.54 (1962)

50. Wolf, J. und Loeser, A.A.: J.clin.Endocrin.14,107 (1954)

51. McGavack, T.H., Seegers, W. und Reifenstein, E.C. jr.:
J.Amer.Geriat.Soc. 9, 533 (1961)

52. s. 42

53. Dowben, R.M.: Nature 184, 1966 (1959)

54. Taselaar, J.A.: Ned.T.Geneesk. 99, 2496 (1955)

55. Bekény, G., Kraft, F. und Lang, S.:
Orv.Hetil. 96, 211 (1955)

56. Bekény, G., Kraft, F. und Lang, S.:
Psychiat.et Neurol.(Basel) 137, 193 (1959)

57. De Toni, E. jr.: Acta endocrin.(Kbh.) 39, Suppl. 63,
S.175 (1962)

58. Szold, E., Szendröi, Z., Weisz, P., Pinter, I., Dési, I.
und Kandas, T.: Lancet S.368 (1959) I

59. Gjörup, S. und Thaysen, J.H.:
Ugeskr.Laeg. 120, 1499 (1959)

60. Gjörup, S. und Thaysen, J.H.: Lancet S.886 (1958) II

61. Cottier, P. und Gossweiler, N.: 'Das akute Nieren-
versagen' (ed.H.Sarre und K.Rother),
Stuttgart 1962

62. Dardenne, U.: Arzneim.-Forsch. 9, 672 (1959)

63. Houtsmuller, A.J.: Acta encrinol.(Kbh.) 39, Suppl. 63, S. 154 (1962)

64. Grönberg, A. und Svanteson, G.: Svenska Läk.-Tidn. 48, 2005 (1951)

65. Weller, O.: Med. Welt S. 2073 (1961)

66. Keitel, H.G. und Sherer, M.G.: J.clin.Endocrin. 17, 854 (1957)

67. Feldman, E.B. und Carter, A.C.: J.clin.Endocrin. 20, 842 (1960)

68. Rosenberg, I.N., Ahn, C.S. und Mitchell, M.L.: J.clin.Endocrin. 22, 612 (1962)

69. Werner, S.C.: Amer.J.Med. 3, 52 (1954)

70. Gordon, B.J., Wolf, J., Krause, T. und Shai, F.: Amer.J.clin.Path. 33, 156 (1960)

71. Peters, J.H., Randall, A.H., Mendeloff, J., Peace, R., Coberly, J.C. und Hurley, M.B.: J.clin.Endocr. 18, 114 (1958)

72. s. 70

73. Lillie, F.R.: J.exper.Zool. 23, 371 (1917)

74. McGinty, D.A. und Djerassi, C.: Ann.N.Y.Acad.Sci. 71, 500 (1958)

75. Suchowsky, G. und Junkmann, K.: Geburtsh. und Frauenheilk. 20, 1019 (1960)

76. Mey, R. und Scheid, H.: Geburtsh. und Frauenheilk. 19, 783 (1959)

77. Revesz, C., Chappel, C.I. und Gandry, R.: Endocrinology 66, 140 (1960)

78. Grumbach, M.M., Ducharme, J.R. und Moloshok, R.E.: J.clin.Endocrin. 19, 1369 (1959)

79. Huggins, C. und Hodges, C.V.: Cancer Res. 1, 293 (1941)

80. Lesser, M.A., Vose, S.N. und Dixey, G.M.: J.clin.Endocrin. 15, 297 (1955)

81. Strauss, J.S. und Kligman, A.M.: J.clin.Endocrin. 21, 215 (1961)

82. Liddle, G.W. und Burke, H.A.: Helv.med.Acta 27,504(1960)

83. Bracavvio, A., d'Alessandro, B., de Luca, R. und Jacono, G.: Minerva med.(Torino) 51, 980(1960)

84. Wynn, V., Landon, J. und James, V.H.T.: J.Endocrin. 25, 199 (1962)

85. James, V.H.T., Landon, J. und Wynn, V.: J.Endocrin. 25, 211 (1962)

86. Vermeulen, A.:'Structures and Metabolism of Corticosteroids', Academic Press 1964, S. 109-116.

87. Brooks, R.V. und Prunty, F.T.G.: J.Endocrinol. 15, 385 (1957)

88. Brendler, H. und Winkler, B.S.: J.clin.Endocrin. 19, 183 (1959)

89. Huis in't Veld, L.G. und Van der Spek, P.A.F.: Acta endocrin. 29, 238 (1958)

90. Geller, J.: J.clin.Endocrin.Metabol. 22, 1116 (1962)

91. Katz, S., Broich, R. und Metzcalf, W.: Metabolism 12, 68 (1963)

92. Reifenstein, E.C., Frobes, A.P., Albright, F., Donaldson, E. und Caroll, E.: J.clin.Invest. 24, 416 (1945)

93. Brendler, H. und Winkler, B.S.: J.clin.Endocrin. 19, 183 (1959)

94. Brichant, J., Brichant, M.L., Ducommun, P., Engel, E. und Riondel, A.M.: Schweiz.med.Wschr. 88, 236 (1958)

95. Vermeulen, A. und Ferin, J.: Acta endocrin. 39, 22(1962)

96. Yates, F.E., Herbst, A.L. und Urquhart, J.: Endocrinology 63, 887 (1958)

97. Urquhart, J., Yates, F.E. und Herbst, A.L.: Endocrinology 64, 816 (1959)

98. Cutuly, E., Cutuly, E. und McCullagh, D.: Proc.Soc.exp.Biol.Med. 38, 818 (1938)

99. Leathem, J.H. und Brent, B.J.: Proc.Soc.exp.Biol.Med. 52, 341 (1943)

100. Leonard, S.L.: Proc.Soc.exp.Biol.Med. 51, 302 (1944)

101. Zizine, L.A., Simpson, M.E. und Evans, H.M.: Endocrinology 47, 97 (1950)

102. Kitay, J.I.: Acta endocrin. 43, 601 (1963)

103. Sakiz, E.: C.R.Soc.Biol.(Paris) 154, 1159 (1960b)

104. Kitay, K.I.: Endocrinology 73, 253 (1963)

105. James, V.H.T., Landon, J. und Wynn, V.:
J.Endocrin. 25, 211 (1962)

106. Gemzell, C.A. und Notter, G.:
J.clinEndocrin. 16, 483 (1956)

107. Vermeulen, A. und Ferin, J.:
Acta endocrin. 39, 22 (1962)

108. Schriefers, H., Scharlau, G. und Pohl, F.:
Acta endocrin. 48, 263 (1965)

109. Sharma, D.C., Forchielli, E. und Dorfman, R.I.:
J.biol.Chem. 238, 572 (1963)

110. Moncloa, F., Peron, F.G. und Dorfman, R.I.:
Endocrinology 65, 717 (1959)

Die vorliegende Arbeit wurde unter Anleitung von Herrn Priv.-Doz.Dr.Dr.Gerhards im Hauptlaboratorium der Schering AG, Berlin, durchgeführt.

Der Schering AG. bin ich für die Unterstützung der Arbeit zu Dank verpflichtet.

Herrn Priv.-Doz.Dr.Dr.Gerhards danke ich für wertvolle Diskussionen und Anregungen.

L e b e n s l a u f

Am 13.8.1937 wurde ich in Accra, Ghana, geboren.

In Kumasi, Ghana, besuchte ich die Swedru Methodist School und die Prempeh Grammar School bis zum Abitur 1955.

Das Medizinstudium begann ich an der University of Cambridge, England. Nach dem Vorphysikum erhielt ich für 1 Jahr die Gelegenheit, mein Studium als Austauschstudent an der Fresno State University, Calif., USA, fortzusetzen. Von 1961-1966 studierte ich an der Freien Universität Berlin und bestand das Medizinische Staatsexamen im Oktober 1966.

Seit dieser Zeit bin ich als Pflichtassistent tätig, z.Z. im Martin Luther-Krankenhaus, Berlin.

Berlin, März 1968

(David Amamoo)